

Human cytomegalovirus in the vascular tree and other organsystems

Citation for published version (APA):

Hendrix, M. G. R. (1998). *Human cytomegalovirus in the vascular tree and other organsystems*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Universiteit Maastricht. <https://doi.org/10.26481/dis.19981202mh>

Document status and date:

Published: 01/01/1998

DOI:

[10.26481/dis.19981202mh](https://doi.org/10.26481/dis.19981202mh)

Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

www.umlib.nl/taverne-license

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.

Samenvatting

Infecties met cytomegalovirus (CMV), een virus dat tot de familie van de herpesvirussen behoort, komen bij de mens vaak voor. Zo heeft 40 tot 90% van de volwassenen aantoonbare antistoffen tegen dit virus. Meestal verlopen deze infecties zonder merkbare gevolgen maar in sommige gevallen kan er een mononucleosis-achtig beeld ontstaan. Na de primaire infectie blijft het virus levenslang in een sluimerende toestand binnen een gastheer aanwezig. Tijdens deze sluimerende toestand, latente infectie genaamd, vindt er geen virusreproductie plaats en wordt hooguit een zeer klein deel van het virale genoom afgelezen. Waar, dat wil zeggen in welke cellen, het virus zich tijdens deze latente infectie bevindt, is nog steeds onduidelijk. Reactivatie vanuit deze latente toestand, waarbij weer actieve virusvermeerdering plaatsvindt, treedt vooral op bij personen met een gestoorde immuniteit, hetzij door de weerstandverlagende behandeling na orgaantransplantatie, of als gevolg van AIDS. CMV-reactivaties binnen deze patientengroepen veroorzaken vaak ernstige, en soms dodelijke, ziekteverschijnselen.

De gedachte dat er naast de bekende door CMV veroorzaakte ziektebeelden ook een verband tussen CMV en atherosclerose zou kunnen zijn, is gebaseerd op een aantal observaties. Zo veroorzaakt Marek's disease virus (MDV), een op CMV lijkend herpesvirus van vogels, bij kippen atherosclerose van de grote vaten. Met behulp van in situ DNA-hybridisatie is het mogelijk MDV-nucleinezuren in de atherosclerotische kippenvaatwand aan te tonen. Spoedig na deze ontdekking werd met in situ DNA-hybridisatie CMV aangetoond in vaatwanden van patienten die een reconstructie van de grote vaten wegens ernstige atherosclerose ondergingen. CMV kon echter ook worden aangetoond in de coronairvaten van jonge patienten zonder atherosclerotische degeneratie. Of CMV een rol speelt in de pathogenese van atherosclerose kan op basis van deze observaties niet worden geconcludeerd. Het is namelijk ook mogelijk dat de gladde spiercellen in de humane vaatwand een reservoir voor latent CMV zijn. Meer directe aanwijzingen dat CMV een rol zou kunnen spelen bij atherosclerose komen van andere observaties. Zo zal na een harttransplantatie een deel van de patienten een versnelde vorm van atherosclerose van de coronairvaten van het getransplanteerde hart doormaken. Deze versnelde vorm van atherosclerose treedt hoofdzakelijk op bij patienten die CMV-seropositief zijn. Ook is er inmiddels een rattenmodel ontwikkeld waar atherosclerose ontstaat na een infectie met een ratten-cytomegalovirus. Binnen dit model bleek het mogelijk om met behulp van antivirale therapie het ontstaan van atherosclerose na CMV infectie volledig te voorkomen.

Om nu te onderzoeken of er een verband bestaat tussen CMV en atherosclerose, of dat de humane vaatwand een reservoir voor virale latentie is, hebben we vaatwandbiopten bij twee verschillende patientengroepen genomen, en deze met moleculaire technieken, op de aanwezigheid van CMV-nucleinezuren onderzocht. De onderzoeksgroep bestond uit patienten die vanwege ernstige atherosclerotische afwijkingen (graad III) een electieve reconstructie van een groot vat ondergingen. Hierbij werd meestal een biopt van de Aorta abdominalis en soms van de Arteria femoralis genomen. Een controle-groep bestond uit gematchte patienten bij wie tijdens obductie was vastgesteld dat er vrijwel geen atherosclerose (maximaal graad I) aanwezig was en bij wie een biopt van de Aorta abdominalis werd genomen. Met behulp van de polymerase kettingreactie (PCR) kon in 90% van de atherosclerotische vaatwanden CMV worden aangetoond, versus in 50% van de controle vaatwanden. De plaats waar de CMV-nucleinezuren zich bevonden, aangetoond met in situ DNA-hybridisatie, bleek in beide patientengroepen echter niet de degeneratieve vaatwand te zijn, maar juist dat deel van de vaatwand dat histologisch normaal was. Het CMV bleek in de gladde spiercellen aanwezig te zijn. Om te bekijken of CMV ook in andere arterien aanwezig is, werd een derde patientengroep verzameld waarbij tijdens obductie een biopt van alle elastische arterien werd genomen. Analyse van deze biopten toonde aan dat CMV in de vaatwand van alle grote vaten

aanwezig is, en tevens dat er geen enkele relatie met atherosclerotische verandering is. De hoeveelheid virus in al deze vaten was onafhankelijk van de mate van atherosclerose en was minder dan 2 virusdeeltjes per 2500 cellen. Op basis van onze gegevens is het dus niet mogelijk een relatie tussen CMV en atherosclerose aan te tonen. De aanwezigheid van CMV in alle vaatwanden betekent mogelijk wel dat de lang gezochte plaats voor dit virus tijdens zijn latente fase gevonden kan zijn.

Tijdens deze latente fase vindt er geen virusreproductie plaats en wordt hooguit een zeer klein deel van het virale genoom afgelezen. Dat er in de vaatwanden geen virusreproductie plaatsvindt hebben we kunnen afleiden uit het feit dat we ondanks tientallen pogingen geen prolifererend CMV hebben kunnen isoleren. Wel hebben we aannemelijk kunnen maken, zowel met de PCR als met dot blot DNA-hybridisatie, dat waarschijnlijk het hele virale genoom in de vaatwand aanwezig is, en dus dat de mogelijkheid tot reactivatie in ieder geval genetisch bestaat. Dat er maar een klein deel van het genoom wordt afgelezen hebben we aangetoond met in situ DNA-hybridisatie. Alleen mRNA afgelezen van immediate early regio's van het genoom kon worden aangetoond terwijl mRNA afgelezen van andere regio's die met name tijdens de virusreproductie actief zijn, niet kon worden aangetoond. Op basis van deze gegevens concluderen we dat de humane vaatwand een reservoir voor latent CMV is.

Omdat tijdens een acute CMV-infectie het virus in vrijwel alle organen aanwezig is dringt zich al snel de vraag op of het virus tijdens de latente fase ook in alle organen aantoonbaar is. Zowel met de PCR als met in situ DNA-hybridisatie was het inderdaad mogelijk CMV aan te tonen in een groot aantal organen en celtypes. Zo was het virus aantoonbaar in de gladde spiercellen van de vaatwand, hepatocyten, tubulaire en glomerulaire niercellen, cellen in de rode pulpa van de milt en in acinaire cellen van het pancreas. Om actieve virusproliferatie uit te sluiten zijn al deze bipten immunohistochemisch onderzocht op de aanwezigheid van virale eiwitten met behulp van monoclonale antilichamen, die gericht zijn tegen specifieke CMV-eiwitten. Deze werden echter nooit aangetoond. Op basis van deze gegevens concluderen we dat latent CMV in vele organen en celtypes aanwezig is.

Humane herpesvirussen vertonen veel overeenkomsten op DNA-niveau. Om aan te tonen dat HCMV en niet een ander herpesvirus in deze organen aanwezig was, werd het noodzakelijk de DNA-fragmenten die met de PCR uit de diverse organen geamplificeerd werden verder te analyseren. We hebben ervoor gekozen een sequentie-analyse van een groot deel van deze amplificaten uit te voeren. Het resultaat was dat er meer dan 95% homologie was met een HCMV prototypestam, aantonend dat inderdaad HCMV in de bipten aanwezig was. In een enkele patient werden consequent twee varianten van het virus aangetroffen, hetgeen suggereert dat een patient latent geïnfecteerd kan zijn met meer dan één stam.

In conclusie:

Hoewel op basis van andere studies een rol voor CMV in de pathogenese van atherosclerose tot de mogelijkheden behoort, hebben wij in ons systeem geen directe relatie tussen HCMV en atherosclerose kunnen aantonen. Wel hebben we aannemelijk kunnen maken dat in de latente fase HCMV in vele organen en celtypes, waaronder gladde spiercellen in de vaatwand, aanwezig is.